

**Proliferationskinetische Untersuchungen
am Samenblasenepithel und an den
Leberparenchymzellen der erwachsenen männlichen
Ratte zur Frage der Funktionsaufnahme
extragonadaler Testosteronbildner nach Kastration ***

von

Dieter Rathgeber

aus

Schwäbisch Gmünd

1972 # 324

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. O. Hornstein

**Proliferationskinetische Untersuchungen
am Samenblasenepithel und an den
Leberparenchymzellen der erwachsenen männlichen
Ratte zur Frage der Funktionsaufnahme
extragonadaler Testosteronbildner nach Kastration ***

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Dieter Rathgeber

aus

Schwäbisch Gmünd

* Mit dankenswerter Unterstützung
der Deutschen Forschungsgemeinschaft

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. G. K o c h
Referent: Prof. Dr. O.P. H o r n s t e i n
Korreferent: Prof. Dr. M. H o f m a n n

Tag der mündlichen Prüfung: 16. 5. 1972

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Autoradiographische Technik und proliferationskinetische Grundlagen	4
III. Hormone und ihre Wirkung unter be- sonderer Berücksichtigung ihrer anabolen und proliferationskinetischen Wirkung	11
IV. Histologie der untersuchten Organe Funktion der Samenblase der Ratte	29
V. Eigene Fragestellung	33
VI. Material und Methodik	34
VII. Ergebnisse	41
VIII. Diskussion	44
IX. Zusammenfassung	56
X. Literaturverzeichnis	58

Herrn Prof. Dr. med. O.P. H o r n s t e i n danke ich herzlich für die freundliche Überlassung des Themas und für alle Ratschläge sowie für die Bemühungen um die Korrektur.

Ebenso gilt mein besonderer Dank Herrn Dr. med. G.H. S c h m i d , der die grundlegenden Erkenntnisse aus seinen vorhergegangenen Arbeiten zur Verfügung stellte, sowie Fräulein E. T e u b n e r für die technische Hilfe, die zur Durchführung der Arbeit erforderlich war.

I. Einleitung

Samenblase und Koagulationsdrüse der weißen Ratte gehören - zusammen mit Prostata, ductus epididymitis und ductus deferens - zu den männlichen Adnexen, deren Funktion und Zusammenspiel der Fortpflanzung dienen. Wie schon 1926 von ENGLE beschrieben, bildet das an Citronensäure reiche Sekret der Samenblase zusammen mit dem fruktosereichen Sekret der anatomisch eng benachbarten Koagulationsdrüse bei der Begattung den Vaginalpfropf.

Das cytologische Aussehen und die Funktion des Samenblasenepithels sind abhängig vom Spiegel androgenwirksamer Substanzen, insbesondere von der Menge des vorhandenen Testosterons. So nimmt die Epithelhöhe wenige Tage nach Kastration deutlich ab, die Sekretbildung kommt zum Erliegen, das gesamte Organ schrumpft.

Unter Testosteronzufuhr bilden sich diese regressiven Erscheinungen zurück und die sekretorische Funktion kommt wieder in Gang. Die damit erzielbare Gewichtszunahme ist abhängig von der Menge des applizierten Testosteron; dieses Versuchsmodell diente früher zur Mengenbestimmung des Testosterons (Lit.bei MANN 1964).

MANN (1964) und SHEPPARD (1965) hatten beobachtet, daß nach Testosterongaben an kastrierten Ratten eine deutliche DNS-Zunahme und somit echte Proliferation des Epithels der Samenblase festzustellen war;

Gleichzeitig stiegen der Citronensäuregehalt und das Gewicht der Samenblase an. SCHMID und ARNOLD (1971) zeigten, daß der Beginn der Testosteronsekretion der Testes um den 40. Lebenstag der Ratte zu einem Proliferationsschub im Samenblasenepithel führt. Die gleichen Autoren berichteten zusammen mit HORNSTEIN (1971), daß eine Kastration der erwachsenen männlichen Ratte ein starkes Absinken der Proliferation des Epithels der Samenblase bewirkt, daß also ein enger Zusammenhang zwischen der Wachstumsrate dieses Organs und der Höhe des Testosteronspiegels bzw. androgenwirksamer Substanzen besteht. In der Arbeit von SCHMID, ARNOLD und HORNSTEIN (1971) wurde weiterhin das zeitliche Verhalten der Wachstumsrate des Epithels der Samenblase untersucht. Die Proliferation nahm nach Kastration ab, erreichte am 7. Tag einen Tiefpunkt, stieg dann um den 12. Tag überraschenderweise wieder an und erreichte ein gleichbleibendes Plateau.

Dieser Wiederanstieg der Proliferation in der Samenblase der weißen Ratte erfolgt etwa gleichzeitig mit einem von STÖCKER et al. (1966) nachgewiesenen Proliferationsschub in der Nebennierenrinde und einer Zunahme der Wachstumsrate im Hypophysenvorderlappen (TIETZE et al. 1968). Ein Zusammenhang zwischen diesen gleichzeitig ablaufenden Wachstumsvorgängen schien möglich.

Da physiologischerweise 95 % des Testosterons den Testes entstammen, da andererseits bei kastrierten Männern Testosteronspiegel gemessen wurden, die $1/3$ bis $1/7$ des Normalwertes betrugen (SCHMIDT et al. 1968 und COPPAGE et al. 1965), erscheint es wahrscheinlich, daß das bei Kastration gemessene Testosteron der NNR entstammt, zumal in diesem Organ ein für diese Syntheseschritte komplettes Fermentsystem nachgewiesen wurde (NEHER 1968). SCHMID, ARNOLD und HORNSTEIN (1971) vertraten die Ansicht, daß der Wiederanstieg der Proliferation des Samenblasenepithels mit der Funktionsaufnahme extragonadaler Testosteronbildner erklärbar ist, insbesondere mit einer vermehrten Testosteronproduktion der NNR.

Unsere Untersuchungen sollten klären, ob dieser Wiederanstieg der Samenblasenproliferation NNR-abhängig und testosteronabhängig ist. Zum Ausschluß streßbedingter reparativer Proliferationsvorgänge wurde das Wachstumsverhalten der Leber untersucht, die in ihrer Proliferationsrate weniger hormonabhängig ist als die Samenblase.

II. Autoradiographische Technik und

proliferationskinetische Grundlagen

Seit der Entdeckung der künstlichen Radioaktivität hat die Autoradiographie einen bedeutungsvollen Aufschwung genommen. Zwar wurde bereits 1904 von LONDON die photographische Platte zum Nachweis natürlicher radioaktiver Isotope verwendet. Aber erst 1946 wurden von LEBLOND und BELANGER und 1947 von PELC P^{32} - und I^{131} -Isotope zur radioaktiven Markierung verwandt.

Die bedeutungsvollste Eigenschaft dieser Isotope ist, daß sie Strahlung emittieren. Diese Strahlung wird beim Zerfall des instabilen Atomkernes frei, der dadurch in einen stabilen Zustand übergeht, wobei ein neuer Kern, aber mit anderen chemischen Eigenschaften, entsteht.

Treten nun geladene Teilchen der Strahlung durch eine photographische Emulsion, so kommt es ähnlich wie bei der Lichtabsorption zu Ionisationen und zur Bildung metallischen Silbers.

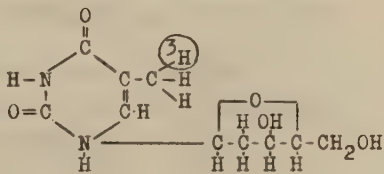
Das Tritium (3H) wird zu den sogenannten weichen β -Strahlern gezählt. Die Reichweite der Strahlen hängt lediglich von der Dichte des Absorbers in mg/cm^3 ab,

nicht von der chemischen Eigenschaft. In Materie mit der Dichte 1 kann für Tritium - dessen maximale Energie 18 keV beträgt - eine mittlere Reichweite von ca. 1 μ angenommen werden (SCHULTZE 1968).

Das Auflösungsvermögen von Tritium geht bis $2/3 \mu$. Infolge dieser ausgezeichneten Auflösung hat schon 1951 FITZGERALD auf Tritium als Isotop für autoradiographische Untersuchungen hingewiesen (SCHULTZE 1968).

Bei der Untersuchung der DNS-Synthese in Ratten wurde 1951 von REICHARD und ESTBRON festgestellt, daß Thymidin ein Vorläufer für die DNS-Synthese ist.

Als dann die Markierung von Thymidin mit Tritium unabhängig in zwei Laboratorien gelang, war ein wichtiger Schritt in der Untersuchung der DNS-Synthese getan (FRIEDKIN, TILSON and ROBERTS 1956).

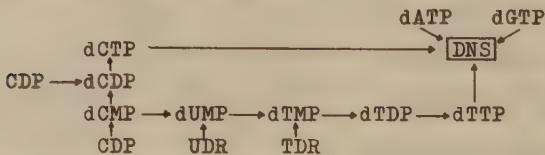


Später konnte von FRIEDKIN, TILSON und ROBERTS sowie MC QUADE, FRIEDKIN und ATCHISON 1956 festgestellt werden, daß markiertes Thymidin in ganz geringem Maße in andere Bausteine als DNS und praktisch gar nicht in RNS eingebaut wird.

Aus Untersuchungen von RUBINI, CRONKITE, BOND und FLIEDNER (1960) geht hervor, daß bereits 1 min nach

Injektion von ^3H -Thymidin 90% der injizierten ^3H -Aktivität aus dem Blut verschwunden waren. Andererseits waren bereits eine Stunde nach Injektion die Hälfte des verabreichten ^3H -Thymidin zu tritiiertem Wasser abgebaut, während die andere Hälfte in neugebildete DNS eingebaut bzw. zu anderen Stoffwechselprodukten umgebaut war. CHANG und LOONEY (1965) stellten fest, daß bereits nach einer Stunde das gesamte markierte Thymidin aus dem Blutkreislauf verschwunden ist. Es ist dies auf die biologische Funktion der Leber zurückzuführen, die den schnellen Abbau des Thymidin bewirkt.

Der grundlegende Stoffwechsel des Thymidin ist in folgender Skizze dargestellt:



(nach KARA und WEIL 1967)

- CDP = Cytidindiphosphat
- dCMP = Desoxycytidinmonophosphat
- dCDP = Desoxycytidinphosphat
- dCTP = Desoxycytidintriphosphat
- UDR = Desoxyuridin
- dUMP = Desoxyuridinmonophosphat
- TDR = Thymidin
- dTMP = Thymidinmonophosphat
- dTDP = Thymidindiphosphat
- dTTP = Thymidintriphosphat
- dATP = Desoxyadenosintriphosphat
- dGTP = Desoxyguanosintriphosphat

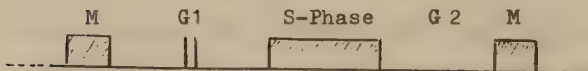
Dabei wird Thymidin durch eine Thymidinkinase zu Thymidinmonophosphat, danach zu Thymidindiphosphat und dann über weitere Kinasen zu dreifach phosphoryliertem Thymidintriphosphat. Durch diese energiereiche Bindung wird schließlich das Thymidin über eine Polymerase an DNS angekoppelt. Der weitaus größte Teil des gespritzten Thymidin wird allerdings abgebaut (RUBINI, WESCOTT und KELLER 1966). Bei diesem Vorgang, der ebenfalls in der Zelle abläuft, wird Thymidin sehr schnell zu Thymin abgebaut. Thymin wird zu Dihydrothymin reduziert. Dieser Abbau geht weiter über Ureidoisobuttersäure zur Aminoisobuttersäure. Bereits 5 Minuten nach Gaben von Thymidin wurden die Abbauprodukte festgestellt. Dies läßt auf einen sehr schnellen Durchtritt durch die Zellmembran schließen. Da Thymidin als Vorläufer nucleärer DNS angesehen werden kann und gar nicht in RNS und nur in geringem Umfang als Baustein für andere Substanzen fungiert, ist es sehr gut zur Markierung von Zellkernen geeignet, die sich in der DNS-Verdopplungsphase, also in Vorbereitung auf die Mitose befinden. Nach Gaben von ^3H -Thymidin treten Markierungen nur bei Zellkernen bzw. auch bei einzelnen Chromosomen auf. Für DNS können wir annehmen, daß sie als genetisches Material äußerst geringen Stoffwechselvorgängen unterliegt (Lit.s. SCHULTZE 1968). Es ist bei der Markierung allerdings auf den zeitlichen Ablauf eines Zellteilungs-Zyklus

zu achten. Denn nur während bestimmter Phasen erfolgt eine Einlagerung von Thymidin. Die Einteilung in solche Phasen stammt von HOWARD und PELC (1953), die erste Aussagen über den Zellteilungszyklus machten, nachdem sie mit ^{32}P markiert hatten.

Man unterscheidet hierbei 4 Phasen:

- G 1 - Phase : Interphase, Ruhephase
- S - Phase : DNS - Verdopplungsphase
- G 2 - Phase : praemitotische, postsynthetische Ruhephase
- M - Phase : Mitose

Graphisch ergibt sich etwa folgendes Bild:



Durch Untersuchungen konnte ermittelt werden, daß die mittlere Länge einer DNS-Synthesephase ca. 6 - 8 Stunden beträgt (Lit. bei STÖCKER 1966). Außerdem wurde festgestellt, daß die praemitotische, postsynthetische Ruhephase und die Mitose jeweils ca. eine Stunde dauern. Änderungen in der Dauer des ganzen Zyklus sind eigentlich nur noch von der praesynthetischen Ruhephase G 1 abhängig (KOBURG und SCHULTZE 1961, OEHLERT et al. 1962).

Ausdruck des Wachstumsverhaltens einer Zellpopulation ist die Anzahl der auftretenden Mitosen. Im gleichen Sinne ist das Auftreten markierter Zellkerne im Autoradiogramm ein Maß für die Proliferation. Durch Feststellung des Prozentsatzes markierter Zellkerne (^3H -Index) läßt sich ein Parameter aufstellen, durch den das Wachstumsverhalten verschiedener Zellpopulationen miteinander vergleichbar wird. Auf diese Weise lassen sich Gewebe einteilen in:

- schnell proliferierende (hoher ^3H -Index)
- langsam proliferierende (niederer ^3H -Index) und
- statische, nicht proliferierende Gewebe
(^3H -Index = 0).

Andererseits bleibt anzumerken, daß die Höhe des ^3H -Index einerseits von der Größe der Wachstumsfraktion (Anzahl der Zellen einer Zellpopulation, die am Zellteilungsprozeß teilnehmen), andererseits von der Länge der einzelnen Teilphasen der Zellteilung abhängt. So ist bekannt, daß zu bestimmten Tageszeiten vermehrt Zellen aus der G 1 - Phase in die S - Phase eintreten, daß also eine unterschiedliche Periodik in den einzelnen Geweben besteht (PILGRIM et al. 1965). Dabei ist von Bedeutung, daß Wechselgewebe mit einer mittleren bis mäßiger Zellneubildungsgröße eine sehr viel stärkere tageszeitliche Schwankung des Mitoseindex aufweisen; schnellproliferierende Gewebe dagegen zeigen kaum tageszeitliche Schwankungen (BULLOUGH 1966).

Es ist weiter bekannt, daß die Länge der einzelnen Phasen der Zellteilung in einzelnen Altersstufen unterschiedlich sein kann; so ist die DNS-Verdopplungsphase in den Leberzellen junger Ratten acht Stunden. Änderungen der Größe der Wachstumsfraktion ergeben sich mit zunehmendem Alter und unter reparativen Vorgängen (Lit. bei SCHULTZE 1968).

III. Hormone und ihre Wirkung unter besonderer Berücksichtigung ihrer anabolen und proliferationskinetischen Wirkung

Der Begriff der inneren Sekretion wurde Mitte des 19. Jahrhunderts von Claude BERNARD geschaffen. Seit 1902 wurden diese Inkrete der endokrinen Drüsen Hormone (griechisch = ich rege an) genannt. Schon sehr bald wurde ihr Sinn erkannt: Die chemische Korrelation einzelner Körperorgane zu bewirken. Ferner kommt den Hormonen die Beeinflussung der morphologischen Ausbildung eines Organs wie auch seiner Funktion zu.

Die Steuerung des systematischen Zusammenwirkens aller Hormone erfolgt vom tuber cinereum des Zwischenhirns einerseits nervös - andererseits hormonal über die Hypophyse. Es besteht ein steter Rückkopplungsmechanismus zwischen dem Hypophysenvorderlappen und den einzelnen hormonalen Zentren.

Im Folgenden soll auf einige Hormone und ihre Wirkung mit spezieller Berücksichtigung ihrer proliferationskinetischen Wirkung eingegangen werden.

1. Steroidhormone

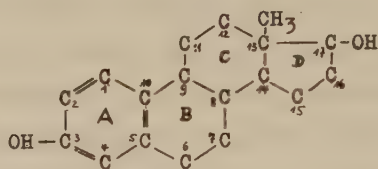
Als erste große Gruppe seien hier die Steroidhormone erwähnt. Ihnen eigen ist das typische Ringsystem, das sich vom Cholesterin ableitet. Cholesterin ist Ausgangssubstanz der Biosynthese für alle Steroidhormone.

Entsprechend ihrer Kohlenstoffatom-Zahl teilt man die Steroide in Gruppen ein.

1.1. C_{18} -Steroide

Dieser 18 C-Atome zählenden Gruppe gehören die Oestrogene an. Sie haben einen aromatischen A-Ring, der 3 Doppelbindungen hat und am 3. C-Atom eine OH-Gruppe besitzt.

Oestradiol



1.2. C_{19} -Steroide

Zu ihnen gehört das Testosteron und dessen Metabolite: Dehydroepiandrosteron, Androstendion und zahlreiche andere. Am C_{10} und C_{13} liegt eine Methylgruppe vor.

1.3. C_{21} -Steroide

Es ist dies weitaus die größte Gruppe. Zu ihnen gehören die Gestagene: Progesteron, 17- α -Hydroxyprogesteron und 20- α , β -Hydroxyprogesteron. Am C_{10} und C_{13} befindet sich je eine Methylgruppe; am C_{17} liegt eine $CO-CH_3$ -Seitenkette vor.

Es soll nun zunächst auf die Oestrogene eingegangen werden. Die Umwandlung von Androgenen zu Oestrogenen erfolgt sowohl im Follikel und Corpus luteum, im Ovarstroma, in der Placenta als auch in den Testes, der Nebennierenrinde und der Leber. Noch nicht vollständig geklärt ist der genaue Ablauf dieses Bio-

syntheseweges (DORFMAN 1968). Bekannt ist allerdings, daß nach Gaben von ^{14}C -markiertem Testosteron auch markiertes Oestrogen gebildet wird.

Neben den drei klassischen Oestrogenen: Oestron, Oestradiol und Oestriol sind im Urin nichtschwangerer Frauen noch weitere 16 oestrogene Stoffe nachgewiesen worden (WINKLER 1969). Mit Ausnahme des 16-Epioestriols sind sie quantitativ bedeutungslos und ihre biologische Wirkung weitgehend unbekannt.

Daneben gibt es noch eine Reihe synthetischer Hormone mit oestrogener Wirkung. Zu den Bekanntesten zählen die Stilbene: Stilboestrol und Hexoestrol.

Generell kann über die Wirkung der Oestrogene gesagt werden, daß sie Wuchsstoffe sind.

Bei Frauen bewirken sie einen Reifungsprozeß, die Ausbildung der sekundären Geschlechtsmerkmale sowie eine regulierende Funktion auf den ovariellen Zyklus. In erster Linie fördern sie Trophik und Wachstum der Fortpflanzungsorgane.

Ihr Eingriff in den Stoffwechsel zeichnet sich durch Steigerung der Durchblutung und Zellpermeabilität aus. Dadurch wird eine vermehrte Einlagerung von Aminosäuren, Kohlenhydraten, Lipiden und Phosphaten bewirkt. Unter Oestrogenwirkung wird die oxydative Phosphorylierung gefördert, die ATP-Produktion mehr als verdoppelt. Es laufen also anabole Prozesse ab, die

zur Zellhypertrophie und Zellhyperplasie führen. Besonders deutlich sind diese Auswirkungen an den reproduktiven Organen zu erkennen (LABHARDT 1971).

Die extragenitalen Wirkungen sind, daß sie die Gefäße der Bauchorgane, der Genitalien, wie auch Hirn- und Herzkranzgefäße erweitern.

Im Blut haben Oestrogene einen lipidsenkenden Effekt. RUHRMANN (1961) fand, daß Oestrogene bei entsprechender Dosis auch zu einem deutlichen Abfall der Hautoberflächenlipide führen. An der Haut bewirken sie ferner einen Anstieg der Pigmentierung - besonders deutlich an den äußeren Genitalien und Brustwarzen. Ferner bewirken Oestrogene eine erhöhte Hautdurchblutung und proliferative Einflüsse auf Haut und Schleimhäute (WINKLER 1969). Das Bindegewebe wird durch Oestrogene elastischer, indem die kollagenen Fasern verstärkt werden.

Auf die Proliferationskinetik wirken Oestrogene auf sehr eindrucksvolle Weise mit Epithelhyperplasien. Diese Wirkung erstreckt sich speziell auf die zugeordneten Erfolgsorgane: Am mehrschichtigen Plattenepithel von Vagina und portio uteri. Die hier beobachtete Steigerung der Mitoserate ist sicher nicht Folge einer Veränderung der Mitosezeit, sondern Ausdruck einer gesteigerten Zellproliferation (BULLOUGH 1946 und 1947). An denselben Organen konnte NAGATA et al. (1966) bei ovariectomierten Tieren ein Absinken

der Zahl DNS-synthetisierender Zellen am mehrschichtigen Plattenepithel auf außerordentlich niedere Werte beobachten. Dieser Rückgang des Proliferationsindex ließ sich dann allerdings durch Oestrogene wieder auf annähernd normale Werte anheben. Auch am Corneaepithel konnte eine Mitosesteigerung nachgewiesen werden (OEHLERT 1969).

Die nächste Gruppe der Steroidhormone sind die C_{19} -Steroide, die natürlichen Androgene. Sie haben zwei anguläre Seitengruppen. Die androgene Aktivität ist in der Regel gebunden an eine Doppelbindung zwischen C_4 und C_5 oder zwischen C_5 und C_6 oder an eine trans-Verbindung der Ringe A und B. Entscheidend über die Wirksamkeit sind die Substituenten an C_3 und C_{17} .

Die Bildungsstätten der Androgene sind in den Testes die Leydig-Zellen, ferner die NNR und bei der Frau die Ovarien und die Plazenta.

Die stärkste Aktivität unter den bisher bekannten Androgenen weist das Testosteron auf. Seine Wirkung wird als 5-20 mal stärker angegeben als die von Androstendion, Dihydroepiandrosteron und Androsten. (NEHER 1968). Voraussetzung für die biologische Wirkung des Testosteron ist allerdings, daß es zunächst durch die 5β -Reductase zu Dihydrotestosteron (5α -Androstan- 17β -ol- 3α) umgewandelt wird (BRUCHOVSKY et al. 1968, WILSON et al. 1969). Diese Umwandlung erfolgt in den Zellkernen und auch im Cytosol der

Erfolgsorgane besonders Prostata, Samenblase und Haut (TVETER et al. 1968). Andere Schritte des Testosteron-Umbaus gehen über Isomerisation oder Dehydrogenierung der 17 β -OH-Gruppe, oder α - oder β -Reduktion der 3-Ketogruppe (LABHARDT 1971).

Die wichtigste Bedeutung, die den Androgenen - speziell dem Testosteron - zukommt, ist der Einfluß auf das Wachstum der Geschlechtsorgane.

Unter seinem Einfluß wird im fetalen Organismus die Differenzierung der ableitenden männlichen Geschlechtswege und äußeren Geschlechtsorgane und die Entwicklung der akzessorischen männlichen Geschlechtsdrüsen beeinflusst. Späterhin wirkt Testosteron auf die Ausbildung des männlichen Habitus ein. Es fördert das Wachstum von Penis, Prostata, Samenbläschen, Samenleiter, Cowpersche und Littré-Drüsen. Es beeinflusst die Spermiogenese und wirkt sich auf die Quantität des Sperma und seinen Fruktose-, Citrat- und sauren Phosphatasegehalt aus (MANN 1964).

Andererseits aber führen große Testosterondosen beim Mann zu einer reversiblen Testes-Atrophie und zu Azoospermie. Diese Wirkung beruht auf einer Hemmung der Hypophyse.

Auf der einen Seite fördert es Bartwuchs, Scham-, Brust-, Bauch- und Achselbehaarung - andererseits aber auch Glatzenbildung. Es zeigt ferner Einfluß

auf das Wachstum und die Pigmentierung des Scrotum.

So kommt es in der Epidermis nach Injektion oder percutaner Verabreichung von Androgenen zu einer gesteigerten Mitosetätigkeit und Verbreiterung der Epidermis (STEIGLEDER und BUCHWALD 1957). Ebenso fand ZACKHEIM (1968) nach Testosteroninjektion eine Verdickung der Epidermis, besonders der Körnerschicht. Auch auf das Vaginalepithel von Frauen haben Androgene ebenso wie Oestrogene eine proliferationssteigernde Wirkung (SMOLKA et al. 1965).

Außerdem fördert Testosteron die Produktion der Talgdrüsen.

Es werden dem Testosteron auch psychotrope Effekte zugeschrieben: Bei Mangel treten Verstimmung und Depression auf, die durch Testosterongaben wieder verschwinden.

Neben diesen hauptsächlich geschlechtsspezifischen Wirkungen zeigt es auch im allgemeinen Stoffwechsel bedeutenden Einfluß: Ohne an irgendwelche anderen endokrinen Drüsen gebunden zu sein, hat es einen anabolen Effekt. Der daraus resultierende Eiweißansatz erfolgt besonders an der Skelett- und Herzmuskulatur, in Leber und Niere. Aufgrund dieses Effektes wirken Androgene auch auf das Knochenwachstum ein.

Diesem anabolen Wirkungsmechanismus liegen noch viele Hypothesen zugrunde. Als sicher gilt nur, daß Testosteron die Wirkung besitzt, Aminosäuren über eine

Vermehrung von Matrizen-RNS in Eiweiß einzubauen (WILLIAMS-ASHMANN 1964).

Außerdem stellt VILLEE (1967) fest, daß Testosteron die RNS-Synthese in den Samenblasen fördert. Nach Kastration nimmt das Gewicht vieler Organe ab. Aufgrund obiger Erläuterungen ist dies erklärbar. Da die Leydig-Zellen der Testes die wichtigsten Androgenbildner sind, fällt der Testosteron-Spiegel stark ab, nach COPPAGE et al. (1965) bei Männern ca. 7-mal tiefer als im Normalfall. Von SCHMIDT et al. (1968) wird bei kastrierten Männern ein Testosteron-Spiegel im Blut angegeben, der ca. $\frac{1}{3}$ des Normalwertes beträgt.

Die Auswirkungen eines Testosteron-Ausfalles sind nicht nur auf die Prostata beschränkt, die eigene Testosteron-Rezeptoren besitzt (FANG 1969). Besonders auffallend ist außerdem eine Gewichtsabnahme der Samenblase. Eine damit eng verbundene Abnahme der Proliferationsrate des Samenblasenepithels stellte SCHMID und ARNOLD (1971) bei der kastrierten weißen Ratte fest.

Angesichts des sehr breiten Wirkungsbereiches der Androgene ist nach Kastration eine starke Beeinflussung des gesamten Stoffwechsel wie auch anderer Funktionen denkbar.

Wie schon zuvor bemerkt, sind die *G e s t a g e n e* die umfassendste Gruppe unter den Steroidhormonen. Die Bildung dieser C_{21} -Steroide erfolgt im Gelbkörper des Ovar, in der Placenta und der NNR.

Dabei nimmt bei der Biosynthese der gesamten Steroide das Progesteron eine Schlüsselstellung ein. Aus ihm können sowohl Oestrogene, Androgene wie auch Glucocorticoide synthetisiert werden.

Die Gestagensynthese hat als Ausgangsmaterial aktiviertes Acetat, das über Farnesyl-Pyro-Phosphat in Squalen, Lanosterin zu Cholesterin - das das Sterangerüst besitzt - synthetisiert wird. Unter dem Einfluß von Gonadotropin entsteht durch Oxydation an C_3 und Doppelbindungsverschiebung nach C_3 über mehrere Zwischenstufen das Progesteron.

Ganz allgemein gesehen dienen die Gestagene der Erhaltung der Schwangerschaft. Nach dem oestrogenen Einfluß auf das Wachstum bewirken sie die spezifische Differenzierung der Zielstruktur. Dem thermogenetischen Effekt der Gestagene wird die ca. 1-4 Tage nach Ovulation eintretende Temperaturerhöhung um 0,4 bis 0,8° C zugeschrieben (UFER 1966).

Unter dem Einfluß von Gestagenen erfährt das Bindegewebe eine gewisse Erweichung und Auflockerung infolge einer gehemmten Kollagenfaserbildung (KORTING 1967).

In einem Rückkopplungsmechanismus hemmen Gestagene mehr oder weniger die Gonadotropinsekretion.

Ihr Einfluß auf die Haut ist nur unbedeutend. So wurde unter Gestageneinwirkung eine Förderung der Pigmentierung festgestellt.

Verschiedentlich werden Gestagene auch als hemmend für eine Testosteronproduktion angegeben, weshalb sie auch therapeutisch in dieser Richtung angewandt werden (LUDWIG 1962).

Eine weitere große Hormon-Gruppe sind die Nebennierenrinden-Hormone. Auch sie gehören zu den Steroidhormonen. Ihr Aufbau erfolgt gemeinsam von Acetyl-CoA über Cholesterin und Progesteron.

Man unterscheidet bei den NNR-Hormonen unter

1. Mineralokortikoide
2. Glucokortikoide
3. Sexualhormone.

Unter den Mineralokortikoiden ist das Aldosteron von sehr großer physiologischer Bedeutung. Es erhält das K-Na-Gleichgewicht, wobei es sehr stark natriumretinierend wirkt.

Allgemein kommen den Mineralokortikoiden regelnde Funktionen für den Wasser-Salz-Haushalt zu. Durch das Retinieren von Na steigt der Blutdruck an und die K-Ausscheidung wird gefördert. Außerdem kommt ihnen eine geringe prophlogistische Wirkung zu.

Dem Mineralokortikoid DOCA (Desoxycorticosteronacetat) ist eine Hautwirkung eigen. Nach intracutanen Tests mit Allergenen zeigten sich nach DOCA-Applikation verstärkte allergische Reaktion (ROSA 1961).

Entgegen den Mineralokortikoiden haben die Glucokortikoide antiphlogistische Wirkung. Sie hemmen akute Entzündungsvorgänge durch Verminderung der Kapillarpermeabilität, durch ihren Einfluß auf die Leukozytenemigration in den Kapillaren und durch ihren Einfluß auf Phagocytose.

Die Wirkung der Glucokortikoide auf den Stoffwechsel besteht in einer geförderten Glycogenablagerung in der Leber und durch Gluconeogenese der Aufbau von Zucker aus Eiweiß. Bei entsprechender Dosierung haben sie katabole Wirkung, die zu Hyperglycämie führt. Außerdem wirken Glucokortikoide auf den Lipidstoffwechsel, indem sie Fette mobilisieren.

Einwirkung auf das Bindegewebe: Durch die Einwirkung von Glucokortikoiden wird die Bildung von kollagenen Fasern und von Granulationsgewebe gehemmt. Diese Hemmung beruht auf der eiweißkatabolen Eigenschaft, die die Fibroblastenzahl senkt (KINDLER 1967).

Durch Einfügung von Methyl, Methylen- bzw. Hydroxyl-Gruppen, durch Einführung von Fluor- bzw. Chloratomen in das Prednisolon - einem direkten Abkömmling des Kortison - wurden neue stark entzündungshemmende Stoffe geschaffen.

Es ist schon seit längerer Zeit bekannt, daß Kortison nicht nur hemmend in die Eiweißsynthese, sondern ebenso in die Proliferationsaktivität bestimmter Gewebe eingreift (OEHLERT 1966).

Wie die eiweißkatabole Eigenschaft ist auch diese mitosehemmende Wirkung der Glucokortikoide unter Einbeziehung des innergeweblichen Regulationsmechanismus erklärbar. Die zelluläre Differenzierung und damit die Produktion von Hemmstoffen wird durch Glucokortikoide gefördert und damit die Aktivität der Basalzellen gebremst (BULLOUGH and LAURENCE 1967, OEHLERT 1969).

Eine erhebliche Abnahme der Proliferationsrate stellen KALKOFF und BORN (1965a) vier Tage nach lokaler Einwirkung von Fluocinolonacetonid in normaler menschlicher Epidermis fest. In noch stärkerem Maß ist dieser Effekt in psoriatisch veränderter Epidermis nachweisbar. Es wird dabei im Generationsvorgang unter Kortikoideinwirkung die Zahl der S-Phasen vermindert (KALKOFF und BORN 1965b)

Die zweite große Gruppe neben den Steroidhormonen sind die

2. P r o t e o h o r m o n e .

Von den zahlreichen Untergruppen sollen hier nur einige wenige kurz aufgeführt werden.

2.1. Gonadotrope Hormone

Zu ihnen gehört das FSH (follikelstimulierendes Hormon), das ICSH (interstitial cell stimulating hormone) das LTH (luteotropes Hormon).

Sämtliche drei Hormone werden im Hypophysenvorderlappen gebildet. Ihre Angriffsstellen sind schon durch

ihre Bezeichnung festzustellen. Daneben haben sie noch andere Auswirkungen, wie FSH z.B. auf die Spermiogenese stimulierend wirkt.

ICSH bewirkt bei der Frau zusammen mit LTH die Ovulation und Progesteronsekretion. Beim Mann fördert es sowohl die Produktion von Testosteron als auch von Oestrogen in den Leydigischen Zwischenzellen.

LTH ist wichtig im Zusammenwirken von Inkreten der Hypophyse, der NNR und der Gonaden.

2.2. Somatotropes Hormon

Die STH-Sekretion aus den eosinen Zellen des HVL hängt stark von Nahrungsaufnahme, Alter und Streß ab (MUNDINGER 1967). STH wirkt auf den anabolen Effekt fördernd. Im Organismus wird diese eiweißaufbauende Wirkung durch Testosteron noch verstärkt (PFEIFFER 1968).

2.3. Adrenocorticotropes Hormon

ACTH, wie es abgekürzt wird, ist ein Polypeptid aus 39 Aminosäuren. Von Bedeutung für seine Wirksamkeit sind im Grunde nur die ersten 20 AS. In unseren Versuchen wurde das Präparat Synacten^R verwandt. Es enthält die ersten 24 der 39 Aminosäuren und unterscheidet sich in seiner Wirkung nicht von der des genuinen Hormons.

Die Bildung des ACTH erfolgt in den chromophoben Zellen des Hypophysenvorderlappens. Dabei unterliegt der ACTH-Spiegel einem Tagesrhythmus, der synchron zu dem der Kortikoide verläuft (LABHARDT 1971).

Bei der Wirkung des ACTH lassen sich zwei große Gebiete abgrenzen: Die extraadrenale und die adrenale Wirkung.

2.3.1. Extraadrenale Wirkung

ACTH wirkt fördernd auf die Hautpigmentierung durch direkte Stimulierung der Melanozytenfunktion ein.

Ferner wirkt ACTH auf den allgemeinen Fettstoffwechsel, indem es zur Lipolyse führt und Fett freisetzt.

2.3.2. Adrenale Wirkung

Der weitaus wichtigste Einfluß des ACTH liegt in seiner regulierenden Wirkung auf die Tätigkeit der NNR. So werden Glucokortikoide und Androgene nur produziert und ins Blut abgegeben, wenn ACTH hinzukommt. Die Regulation der NNR-Sekretion erfolgt durch Stimulation der Biosynthese der Hormone, indem es in die Umwandlung von Cholesterin in Pregnenolon eingreift (KARABOYAS 1965). Unbekannt ist, ob dabei Enzyme aktiviert werden, oder ob ACTH die Bereitstellung des Co-Fermentes TPNH bewirkt. Dieser stimulierende Einfluß ist jedoch stark von der Reaktionsfähigkeit der NNR abhängig.

Während der biochemische Wirkungsmechanismus des ACTH stark umstritten ist, wurde mehrfach bestätigt, daß es zu einer akuten Vermehrung des cyclischen AMP im Nebennierengewebe führt (LABHARDT 1971).

Neben der Stimulierung der Hormonproduktion durch ACTH wird auch eine verstärkte Proteinbildung in der NNR beobachtet, Größenzunahme der Zellkerne, Vermehrung

der Mitochondrien in den NNR-Zellen und eine allgemeine Gewichtszunahme der NNR. Die Durchblutung der NNR nimmt unter ACTH-Einfluß zu, gleichzeitig sinkt ihr Ascorbinsäuregehalt ab (WINKLER 1969).

Wie das Kortisol, dessen Ausschüttung ACTH bewirkt, hat es entzündungshemmende, antiallergische und anti-proliferative Wirkung. Dieser antiproliferative Effekt wurde von GUZEK (1964) auch an der Leber beschrieben.

Da ACTH generell stimulierend auf die gesamte NNR einwirkt, kommt es auch zu einer vermehrten Sekretion der übrigen NNR-Hormone, speziell der Steroidhormone, da deren Synthese durch ACTH aktiviert wird.

Indem wir also kastrierten Tieren ACTH verabreichen, wäre ein gewisser Testosteronanstieg zu erwarten, der sich auch in einer gesteigerten Zellproliferation des Samenblasenepithels deutlich machen würde.

Gleichzeitig aber konnte FLICKINGER (1966) nach 14-tägiger ACTH-Injektion an gefangenen Vögeln beobachten, daß deren Hoden kleiner wurden und gelegentlich ganz atrophierten.

2.3.4. Vasopressin

Es wird im Hypothalamus gebildet, sodann im Hypophysenhinterlappen gespeichert und bei Bedarf ins Blut abgegeben. Es bewirkt Diuresehemmung und erregt ferner die gesamte glatte Muskulatur, was zu Vasoconstriction und damit zu Bluddruckanstieg führt (LABHARDT 1971).

Einflüsse auf Proliferation sind nicht bekannt.

2.3.5. Insulin

In den β -Zellen des Langerhans'schen Organs gebildet, gelangt es in den ganzen Organismus und ist für die Stoffwechselleistung aller Organe von Bedeutung. Allgemein bekannt ist sein blutzuckersenkender Einfluß. In den Eiweiß-Haushalt greift es anabol ein: Es wirkt auf die Durchlässigkeit der Zellmembran für Aminosäuren ein. Insulin fördert die Fettsäure-Synthese in der Leber, gleichzeitig bremst es die Freisetzung von Fettsäuren. Von MORETTI (s.WINKLER 1969) wurde ein beschleunigender Einfluß auf das Haarwachstum beschrieben.

Auf mehrschichtiges Plattenepithel hat Insulin eine mitosesteigernde Wirkung. Es wird dies auf eine Stimulierung des Hexokinasesystems und eine dadurch gesteigerte Glucoseaufnahme aus dem Blut zurückgeführt (PROP und HENDRIX 1965).

3. Nebennierenmark - Hormone

Besonderes Kennzeichen dieser Hormongruppe ist ihre thyrosinähnliche Struktur, weshalb sie auch oft unter dieser Bezeichnung zusammengefaßt wird.

3.1. Noradrenalin bzw. Arterenol zählt zu den wichtigsten blutdruckregulierenden Hormonen. Ohne die Herzfrequenz und das Herzminutenvolumen wesentlich zu beeinflussen, erhöht es den diastolischen Blutdruck infolge Vasokonstriktion (WINKLER 1969).

3.2. Das weitaus bekannteste NNM- Hormon ist das Adrenalin. Es bewirkt eine Erhöhung der Herzfrequenz, Erweiterung der Herzkranzgefäße, Blutdruck-erhöhung durch Verengung der peripheren Gefäße; die Muskulatur der Atemwege und des Magen- Darmtraktes erschlafft unter Adrenalineinwirkung. Seine sympathikomimetische Eigenschaft äußert sich in verstärkter Tränendrüsensekretion sowie in einer Kontraktion der musculi arrectores pilorum (LABHARDT 1971).

In Untersuchungen an haarlosen Mäusen stellte EVENSEN (1964) nach Adrenalininjektion in vivo und in vitro eine Verkürzung der Mitosezeit fest. Dies führte gleichzeitig zu einer Senkung der Mitosezahl. Dieselbe mitosehemmende Wirkung des Adrenalin hatte bereits 1942 LETTRÉ an Fibroblastenkulturen nachgewiesen.

Nachdem nun die wichtigsten Hormone kurz besprochen und, sofern überhaupt bekannt, auf ihre proliferative Wirkung eingegangen werden konnte, bleibt nun noch ein Abschnitt für die

4. A n t i a n d r o g e n e .

Unter dieser Stoffgruppe versteht man Substanzen, die kompetitiv über eine Blockierung der peripheren Rezeptoren die androgenen Wirkungen anderer Substanzen - speziell des Testosteron - aufheben (NEUMANN et al. 1968). Graviden Tieren verabreicht, beeinflussen sie die Sexualdifferenzierung des Feten irreversibel. Es entsteht

das Bild einer testiculären Feminisierung. Beim erwachsenen Mann wird das Syndrom des männlichen Klimakteriums nachgeahmt. Weniger zurück gehen die sekundären Geschlechtsmerkmale. Libido (NEUMANN et al. 1968) und kopulative Potenz sind reversibel gemindert. Nach ca. 8-wöchiger Verabreichung wird die Spermatogenese in Tierversuchen stark gestört (NEUMANN et al. 1968). Wachstum und Funktion der androgenabhängigen Drüsen (Prostata, Praeputialdrüse, Talgdrüsen) werden gehemmt. Denselben Effekt konnte NEUMANN auch an der Samenblase nachweisen. Ob dies auch für die Samenblase unserer Versuche zutrifft, wird später aufgezeigt werden.

Dadurch, daß Antiandrogen das Angreifen des Testostérons am Sexualzentrum verhindert, reagiert das Sexualzentrum mit verstärkter Ausschüttung von Releasingfaktoren für Gonadotropin (WINKLER 1969).

Nach Verabreichung von Antiandrogen treten in der Hypophyse Kastrationszellen auf (NEUMANN et al. 1968). Gleichzeitig mit der Verabreichung von Antiandrogenen ist auch mit einem Ausbleiben des anabolen Effektes zu rechnen.

IV. Histologie der untersuchten Organe

Funktion der Samenblase der Ratte

1. Histologischer Aufbau der Leber

Die Leber ist zum größten Teil - mit Ausnahme der pars affixa, wo sie mit dem Zwerchfell verwachsen ist - vom visceralen Blatt des Peritoneum überzogen. Erst darunter befindet sich die eigentliche bindegewebige Leberkapsel, die Glissonsche Kapsel. Als peritoneales Bindegewebe zieht die Glissonsche Kapsel mit den Gefäßen ins Leberinnere. Durch Septenbildung wird das Leberparenchym in Leberläppchen eingeteilt. Diese Leberläppchen ihrerseits teilen sich in polygonale Felder, die sternförmig in das Zentrum führende Zellbalken zeigen. In der Mitte befindet sich der Hohlraum der Zentralvene. Die großen Leberzellen sind plattenartig übereinander angeordnet und durch zahlreiche Querverbindungen vereint. Die Kerne der Leberzellen sind rund. Eine Anpassung an große Leistung ist die Kernvergrößerung. In den Kernen selbst sind oftmals paraplasmatische Einschlüsse nachweisbar - Glycogen, Pigmente, Fette - .

Die Blutversorgung der Leberläppchen erfolgt durch die Sinusoide, in denen der Blutstrom von der Peripherie zum Läppchenzentrum zieht. An der Übergangsstelle zwischen Leberzellbalken und den Sinuskapillaren befindet sich ein als DISSEscher Raum bezeichneter Bezirk, in den Mikrovilli der Leberzellen hineinragen. Im Bereich

dieses perikapillären Spatium fehlt eine das Endothel umfassende Basalmembran, dafür wird es von einem feinen Netz aus Retikulinfasern, den Gitterfasern durchzogen.

Besonders an den Teilungsstellen der Sinusoide liegen der Innenfläche der Kapillarwand stark formveränderliche Zellen mit Ausläufern an, die Kupfferschen Sternzellen. Der größte Teil ihrer Cytoplasmaoberfläche wird vom Blut umspült. Ihnen kommen sehr verschiedenartige Funktionen zu, worauf hier nicht eingegangen werden soll.

In unseren Versuchen wurden nur die Leberparenchymzellen untersucht.

2. Histologie und Funktion der Samenblase

Topographisch gesehen liegen die vesiculae seminales dem fundus vesicae urinariae an. Es sind dies zwei blinde Schläuche, die in Windungen gelegt sind. Sie werden durch eine äußere Bindegewebshülle in dieser Lage gehalten. Die Schleimhaut der Samenblase bildet zahlreiche Kämmerchen. Die Ausführungsgänge - ductus excretorii - münden bei der Ratte an der Übergangsstelle zum ductus ejaculatorius in die urethra ein.

Das gesamte Drüsenlumen wird durch einschichtiges, hochzylindrisches Epithel ausgekleidet (MOORE et al. 1930; GYLLING 1938). Der Zellkern der Epithelzellen

ist oval und mehr basal gelegen. Das Epithel einiger Seitenkammern ist niedriger und der Zellkern liegt quer an der basalen Zellgrenze. Dies ist vor allem bei zunehmender Sekretion zu beobachten.

Schon lichtmikroskopisch sind oberhalb des Zellkerns zum Lumen hin feine Sekretgranula feststellbar - die bei der Ratte bereits am 18. und 20. Tag nach Geburt von AKUTSU und am 35. Tag von WIESNER nachgewiesen wurden. (Lit. bei HENNINGSEN 1963). Nach PRICE soll die Samenblase zu jener Zeit auch ihre Funktion aufnehmen. Mit zunehmender Sekretion wird die gesamte Drüse größer. Dabei dehnen sich vor allem die Seitenkammern und der Hauptgang aus. Auffallend ist dabei vor allem, wie HENNINGSEN (1963) feststellte, daß die Aktivität der Karboanhydratase und der DPN-Diaphorase abnehmen.

Entwicklungsmäßig leitet sich die glandula vesiculosa vom cranialen Divertikel des Wolffschen Ganges ab. Bei der Ratte beginnt diese Entwicklung am 18. Embryonaltag (PRICE 1936, GYLLING 1938), beim Menschen relativ früh im 3. Embryonalmonat (HENNINGSEN 1963).

Diese Entwicklung kann durch Verabreichung von Testosteronpropionat (Testoviron^R) beschleunigt werden (HENNINGSEN 1963). Aber nicht nur während der Entwicklung zeigt die Samenblase eine gewisse Hormonabhängigkeit. Bei erwachsenen Ratten bewirkt eine

Testovirongabe eine verstärkte Sekretbildung. Gleichzeitig steigt der Mitoseindex des Samenblasenepithels an.

Dieses Phänomen der Hormonabhängigkeit sollte für die Untersuchungen dieser Arbeit maßgebend sein.

V. Eigene Fragestellung

Die eigenen autoradiographischen, proliferationskinetischen Untersuchungen sollen mit Hilfe der Markierung wachsender Zellen mit ^3H -Thymidin folgende Fragen beantworten:

Ist der Wiederanstieg der Samenblasenproliferation kastrierter Ratten zwischen dem 7. und 12. postoperativen Tag (SCHMID, ARNOLD und HORNSTEIN 1971) hormonbedingt? Lassen sich also diese Proliferationsvorgänge von operationsbedingten (= streßbedingten) Erholungsvorgängen abgrenzen?

Die nächste Fragestellung war: Besteht zwischen dem Wiederanstieg der Samenblasenproliferation kastrierter Ratten zwischen dem 7. und 12. postoperativen Tag (SCHMID, ARNOLD und HORNSTEIN 1971) und den etwa zur gleichen Zeit ablaufenden Proliferationsvorgängen der NNR kastrierter männlicher Ratten (STÖCKER et al. 1966) ein hormoneller Zusammenhang?

Ist der Anstieg der Samenblasenproliferation kastrierter Tiere testosteronbedingt, sodaß die zeitlich parallel zur Samenblasenproliferation ablaufenden Proliferationsvorgänge der NNR als Ausdruck vermehrter Testosteron-Produktion gedeutet werden können?

VI. M a t e r i a l u n d M e t h o d i k

1. Tiermaterial

Es wurden erwachsene männliche reinrassige Inzuchtratten (Wistar) von durchschnittlich 5 1/2 Monaten verwendet. Ihr Gewicht lag zwischen 280 und 440 g. Alle Versuchstiere wurden unter gleichen konstanten Bedingungen gehalten: Raumtemperatur 18° Celsius, Trockenfutter (Altromin^R) und Wasser ad libitum, regelmäßiger 12-stündiger Tag-Nacht-Rhythmus. Die Tiere wurden während des Versuchs in einem eigenen Versuchsraum gehalten.

2. Experimenteller Teil

2.1. Insgesamt wurden zu den Versuchen 24 Tiere verwendet. Es wurden folgende Versuchsgruppen gebildet:

- a) 4 Kontrolltiere (Normaltiere, kein experimenteller Eingriff)
- b) 10 Tiere, an denen eine Vollkastration vorgenommen wurde.* Es wurden jeweils zwei Tiere am 3., 7., 12., 21. und 90. Tag nach Kastration getötet.
- c) 6 Tiere, an denen eine Schein-Operation vorgenommen wurde; die Tötung von je zwei Tieren erfolgte am 3., 7. und 12. postoperativen Tag.

* Es handelt sich hierbei um dasselbe Tierkollektiv, wie es von SCHMID und ARNOLD (1971) untersucht wurde.

d) 2 Tiere, an denen eine Vollkastration vorgenommen wurde und die vom 7. bis 11. postoperativen Tag täglich zwischen 9 und 10 Uhr je 1 IE ACTH (Synacten^R) i.m. appliziert bekamen; die Tötung erfolgte am 12. Tag.

e) 2 Tiere, an denen eine Vollkastration vorgenommen wurde und die vom 7. bis 11. postoperativen Tag täglich zwischen 9 und 10 Uhr je 10 mg Cyproteron-Acetat (SH 80714) * subcutan injiziert erhielten; die Tötung erfolgte am 12. Tag.

Bei allen Versuchstieren wurde bei Versuchsbeginn und vor Tötung das Körpergewicht bestimmt. Dabei wurde eine Waage verwandt, bei der eine Gewichtsungenauigkeit von ± 5 g einkalkuliert werden muß.

2.2. Operative Technik

Um gleiche Versuchsbedingungen zu erzielen, wurde die Operation bei allen Tieren in der Zeit zwischen 8 und 10 Uhr vormittags vorgenommen. 10 Tiere der Gruppe Vollkastration erhielten eine Äthernarkose und zusätzlich 0,15 ml Nembutal^R intramusculär gespritzt. Die übrigen 14 Tiere erhielten reine Barbiturat-Narkosen mit Nembutal^R. Es wurden dabei stets 0,4 ml, bei größeren Tieren 0,5 ml verabreicht. Nach Reflexprüfung wurden die Schichten der

* Das Präparat wurde dankenswerter Weise von der Schering AG, Berlin zur Verfügung gestellt.

Bauchdecke durch einen senkrechten medianen Abdominalschnitt eröffnet. Sowohl bei der Gruppe der Schein-Operations-Tiere als auch der Vollkastrations-Tiere wurden beide Hoden vorsichtig aus dem Scrotum ins untere Abdomen hochgeschoben.

Bei den Schein-OP-Tieren wurden danach beide Hoden wieder in das Scrotum reponiert. Die innere Bauchdeckenschicht wurde sodann primär mit Catgut^R vernäht; die Hautnähte erfolgten mit Seidenfaden in Einzelknopfnähten.

Bei den Tieren, die kastriert werden sollten, wurde der Nebenhoden präpariert und dann der Hodenpol dargestellt. Mittels Catgut^R wurde dann der Hodenpol jedes Hodens unterbunden und die beiden Hoden abgetrennt. Die verbliebenen Nebenhoden wurden ins Scrotum zurückverlagert. Die Wundversorgung der Bauchdecke erfolgte wie oben: Die innere Schicht wurde mit Catgut^R primär versorgt, die Hautnaht wurde in Einzelknopfnähten mit Seidenfaden vorgenommen.

Alle Tiere überstanden die Operation gut.

3. Autoradiographisch - technischer Teil

3.1. Applikation des radioaktiven DNS-Vorläufers.

Sämtliche Tiere erhielten genau eine Stunde vor Tötung eine einmalige Injektion von je 500 μ Ci pro 0,5 ml ³H-Thymidin (Schwarz Bio Research) intraperitoneal appliziert. Die spezifische Aktivität dieser Substanz

beträgt 6,0 Ci/ m Mol. (Lit. bei SCHULTZE 1968).

Um Fehler durch tageszeitliche Schwankungen der Mitosehäufigkeit (Lit. bei OEHLERT 1968) weitgehend auszuschalten, wurden diese Injektionen alle am Vormittag zwischen 8 und 10 Uhr verabreicht (PILGRIM et al. 1965). Infolge des schnellen Abbaus von Thymidin wurde die radioaktive Versuchszeit von einer Stunde als geeignet angesehen.

Die Tötung der Tiere erfolgte im leichten Ätherrausch durch Dekapitierung. Unmittelbar nach der Tötung wurden die zu untersuchenden Organe entnommen.

3.2. Anfertigung der Autoradiogramme

Die entnommenen Organe wurden sofort für 48 Stunden in neutralem 10 %igem Formalin bei 4° Celsius fixiert; das Formalin wurde in diesem Zeitraum mehrfach gewechselt. (Zum Austausch des evtl. nicht incorporierten ^3H -Thymidins wurde das Formalin mit 0,5 mg/ml inaktivem Thymidin versetzt. Sodann wurden die Proben 24 Stunden fließend gewässert. In der aufsteigenden Alkoholreihe - 2 Std. 70 %iger, 5 Std. 80 %iger, 12 Std. 96 %iger und 12 Std. 100 %iger Alkohol - wurde den Organen Wasser entzogen. Nach 24 Stunden in Methylbenzoat wurden sie 40 min in Benzol belassen, um dann je 24 Stunden in zunächst weichem und dann hartem Paraffin eingebettet zu werden.

Danach wurden 3 μ dicke Schnitte angefertigt, die nochmals in einer Waschlösung aus inaktivem Thymidin eingelegt wurden.

Die so erhaltenen Präparate wurden nun im eigentlichen autoradiographischen Teil mit Stripping-Film (Kodak AR 10, Kodak Ltd. London) überzogen (Einzelheiten s. SCHULTZE 1968). Bei dieser Technik befindet sich eine photographische Emulsion von 5 μ Dicke auf einer 10 μ dicken Gelatineschicht. Der Korndurchmesser beträgt bei Kodak AR 10 ca. 0,2 μ . Die Gelatineschicht auf der Filmbasis gewährt ein sicheres Haften auf dem Objekt. Da sie im Trocknungsvorgang auf mindestens 1/100 μ schrumpft, hat sie auf die wenig durchdringungsfähigen β -Strahlen des Tritium keinen Einfluß.

Beim Auflegen des Filmes wurde sowohl auf konstante Luftfeuchtigkeit und Temperatur (16° C) geachtet. Außerdem wurde versucht, durch Abdeckung des Arbeitstisches mit schwarzem Papier, elektrostatischen Entladungen vorzubeugen.

Das Aufziehen der Filme wurde in der Dunkelkammer bei dunklem Rotlicht und einem Lampenabstand von ca. 1 m durchgeführt.

Sämtliche Präparate wurden 18 Tage exponiert. Es erfolgte dies im Kühlschrank bei 4° C in lichtdichten Behältern, die mit CaSO_4 - Drierite^R - gefüllt waren. Es hatte sich diese Expositionszeit bereits bei früheren Versuchen als günstig hinsichtlich der Markierungsintensität erwiesen. Es sollten dazu ca. 10^7 - 10^9 β -Teilchen pro qcm auf die Emulsion auffallen, um eine deutliche Schwärzung zu erzielen (DAWSON, FIELD and STEVENS 1963).

Die Entwicklung der verwendeten Stripping-Filme wurde mit der fertig bezogenen Lösung Kodak D 19 vorgenommen. Um den Nulleffekt* möglichst gering zu halten, wurde die Entwicklungszeit nur kurz gehalten (SCHULTZE 1968).

Nach dem Abspülen unter Wasser wurden die Autoradiogramme kurz in Essigsäure getaucht und dann fixiert (Unifix^R-Kodak). Nach nochmaligem sorgfältigen Wässern wurden die Präparate mit Haematoxylin Eosin eingefärbt.

Der gesamte Entwicklungsprozeß wurde unter konstanten Bedingungen durchgeführt.

3.3. Auswertung der Autoradiogramme

Die Auswertung der Präparate erfolgte unter dem Lichtmikroskop bei 1120-facher Vergrößerung mit Ölimmersion. Der geringe Null-Effekt der Autoradiogramme erlaubte es, alle Zellen, die mindestens vier Silberkörner direkt über dem Zellkern aufwiesen, als markierte Zellen zu zählen. Die Markierung mußte eindeutig sein und sich über einem Zellkern befinden.

* Sichtbare Silberkörner, die nicht durch im Schnitt inkorporiertes ³H-Thymidin hervorgerufen wurden; also "Artefakte", die durch Filmqualität, kosmische Strahlung etc. entstanden sind.

Es wurden bei der Leber die Leberparenchymzellen untersucht und zwar nur die Zellen, die eindeutig als Leberzellen identifizierbar waren. Bei der Samenblase wurden nur die Epithelzellen überprüft. Von jedem Tier wurden 10 000 Zellen pro Organ ausgezählt. Aus der Anzahl der markierten Zellen ergab sich der ^3H -Index als Prozentangabe. Um biologische Schwankungen auszugleichen, wurde jeder Versuchspunkt mit zwei Tieren besetzt. Von den sich daraus ergebenden Werten wurde der Mittelwert genommen.

VII. E r g e b n i s s e

An erwachsenen weißen Ratten wurde der ^3H -Index der Epithelzellen der Samenblase und der Leberparenchymzellen bestimmt. Die einzelnen Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen und den dazu gehörenden graphischen Darstellungen aufgeführt.

Die ermittelten Ergebnisse lassen sich zusammenfassend folgendermaßen darstellen:

1. Der ^3H -Index der Kontrolltiere - als Mittelwert aus vier Tieren bestimmt - ist bei den

Leberparenchymzellen 0,125 %

Samenblasenepithelzellen 0,43 %.

2. Die Höhe des ^3H -Index kastrierter männlicher Ratten wurde über einen Zeitraum von 90 Tagen nach der Kastration an Leber und Samenblase verfolgt. Wir kamen zu folgenden Ergebnissen:

- a) Die Proliferation der Samenblase sank vom 3. bis 7. postoperativen Tag auf den tiefsten Punkt, stieg bis zum 12. Tag wieder an und pendelte sich auf ein gleichbleibendes Niveau ein (s. Abb. 1).*

* Diese Befunde wurden an denselben Präparaten erhoben, wie die von SCHMID, ARNOLD und HORNSTEIN (1971); unsere Kontrollzählung ergab einen nahezu gleichartigen Kurvenverlauf.

- b) Die Proliferation der Leber sank am 3. postoperativen Tag ab, stieg am 7. Tag wieder an, um anschließend durchgehend niederere Werte als die Kontrollwerte aufzuweisen (s.Abb.1).

Es sei hier darauf hingewiesen, daß bei den regenerativen Vorgängen zwischen Leber und Samenblase eine zeitliche Verschiebung vorliegt: Der ^3H -Index der Leber steigt zwischen dem 3. und 7. Tag post castrationem; der ^3H -Index der Samenblase zwischen dem 7. und 12. postoperativen Tag wieder an (s.Abb.1).

3. Bei scheinoperierten Tieren wurde die Leberproliferation und Samenblasenproliferation zu verschiedenen Zeiten postoperativ geprüft:

- a) Abfall des ^3H -Index bis zum 3. Tag nach Operation; Wiederanstieg, also Proliferationsschub vom 3. bis 7. Tag.
- b) Abfall der Proliferation der Leber bis zum 3. Tag post operationem; Wiederanstieg zwischen dem 3. und 7. Tag.

Es sei festgestellt, daß die postoperativen Regenerationsvorgänge in Leber und Samenblase gleichzeitig erfolgen (zwischen dem 3. und 7. postoperativen Tag). Verglichen mit den Wachstumsvorgängen nach Kastration zeigt sich, daß die Regenerationsvorgänge in Samenblase und Leber zum gleichen Zeitpunkt erfolgen wie in der Leber kastrierter Tiere; die Samenblasenproliferation bei kastrierten Tieren tritt verzögert auf (s.Abb.2).

4. Durch tägliche Gaben von 1 IE Synacten^R-Depot vom 7. bis 11. Tag nach Kastration (i.m.) ließ sich der ³H-Index in der Samenblase steigern (³H-Index am 12. Tag post castr.: 0,115%; ³H-Index am 12. Tag post castr.+ ACTH: 0,26%).
5. Durch tägliche Gaben von Gestagen-Antiandrogen (SH 80714) ebenfalls an kastrierte Tiere vom 7. bis 11. Tag (subcutan) wurde der ³H-Index im Samenblasenepithel gesenkt (³H-Index am 12. Tag post castr.: 0,115%; am 12. Tag post castr.+ Antiandrogen: 0,07%) (s.Abb.4).
6. Bei Verfolgung des Gewichtsverhaltens der Versuchstiere nach der Kastration ergibt sich bei dem Vergleich des Körpergewichtes vor der Tötung mit dem Ausgangsgewicht, daß der tiefste Wert am 7. Tag erreicht wird und daß es danach zu einem deutlichen Anstieg bis zum Normalwert kommt. Dieser Gewichtsanstieg läuft parallel zu dem Anstieg des ³H-Index der Samenblase kastrierter Tiere (s.Tab.1 und Abb.5).

Tabelle 1		Gewichts - Tabelle				
Versuch	Tier Nr.	Gewicht		Diff.	%	Mittel
		Beg.	Ende			
Vollkastr.						
3 Tage	67 68	330g 400	365g 390	+35g -10	+10,6 - 2,5	+ 4,05
7 Tage	61 62	420 420	370 360	-50 -60	-12 -14	-13
12 Tage	69 70	400 400	420 390	+20 -10	+ 5,0 - 2,5	+ 1,25
21 Tage	63 64	400 340	375 330	-25 -10	- 6,3 - 2,9	- 4,6
90 Tage	65 66	330 360	350 380	+20 +20	+ 6,0 + 5,6	+ 5,8
Schein-Op.						
3 Tage	114 115	360 320	330 320	-30 ± 0	- 8,3 ± 0	- 4,15
7 Tage	120 121	310 310	295 310	-15 ± 0	- 4,8 ± 0	- 2,4
12 Tage	118 119	345 385	335 370	-10 -15	- 2,9 - 3,9	- 3,4
Vollkastr. 7.-11.Tag Antiandro.	107 108	390 330	360 300	-30 -30	- 7,7 - 9,0	- 8,35
Vollkastr. 7.-11.Tag ACTH	116 117	440 390	430 380	-10 -10	- 2,3 - 2,5	- 2,4

Tabelle 2 ³ H-Index von Leber und Samenblase						
		Leber			Samenblase	
Versuchsart	Tag	Tier Nr.	Werte	Mittel	Werte	Mittel
Kontroll- werte		3 28 103 104	0,10 0,15	0,125	0,4 0,46 0,4 0,47	0,43
Kastration	3	67 68	0,03 0,04	0,035	0,15 0,11	0,13
	7	61 62	0,12 0,11	0,115	0,04 0,01	0,025
	12	69 70	0,02 0,02	0,02	0,11 0,12	0,115
	21	63 64	0,01 0,04	0,025	0,1 0,06	0,08
	90	65 66	0,05 0,04	0,045	0,15 0,01	0,08
Schein-Op.	3	114 115	0,05 0,04	0,045	0,07 0,2	0,135
	7	120 121	0,11 0,10	0,105	1,65 1,18	1,415
	12	118 119	0,04 0,12	0,08	0,26 0,11	0,185
Kastration 7.-11.Tag Antiandro.	12	107 108	0,12 0,07	0,095	0,09 0,05	0,07
Kastration 7.-11.Tag ACTH	12	116 117			0,18 0,34	0,26

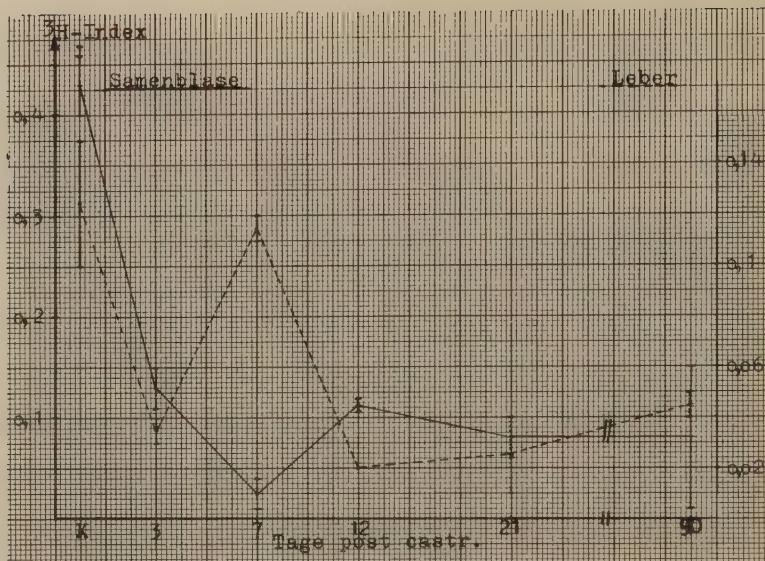


Abb. 1 Kurven des ^3H -Index von Samenblasenepithel- und Leberparenchymzellen weißer Ratten nach Kastration. (Ermittelt durch Auszählung von 10 000 Zellen pro Tier und Organ). K=Kontrollwert (Überprüfende Nachzählung der Ergebnisse von SCHMID, ARNOLD und HORNSTEIN 1971).

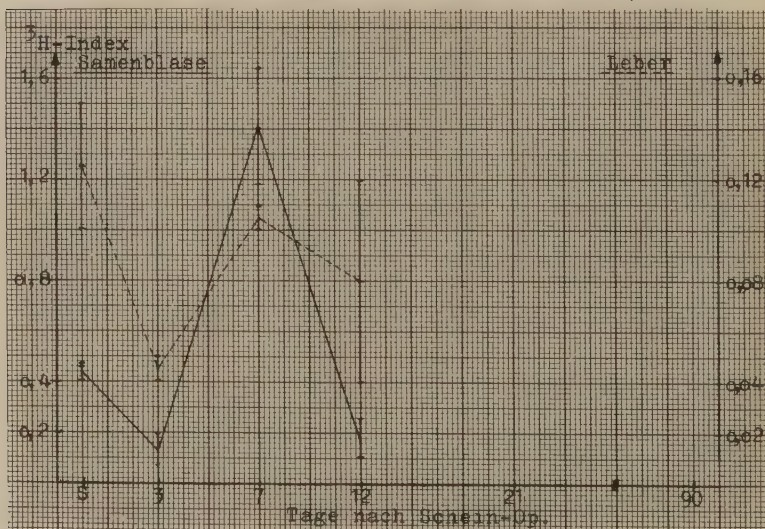


Abb. 2 Kurven des ^3H -Index der Samenblase und Leber weißer Ratten nach Schein-Operation. S=Kontrollwert

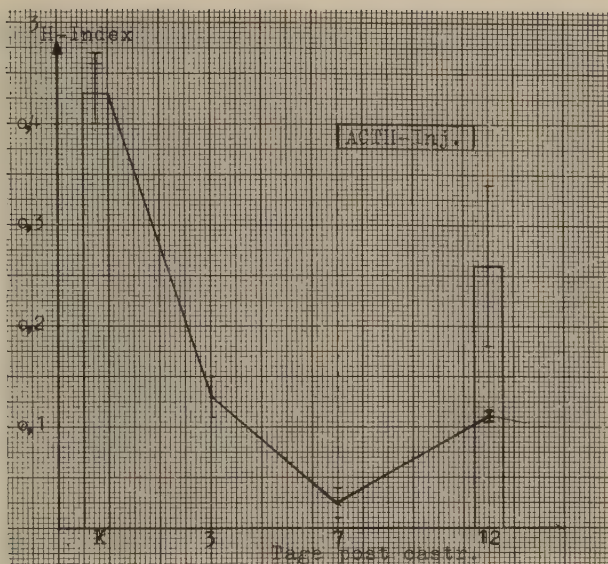


Abb. 3 Darstellung des $^3\text{H-Index}$ vom Samenblasenepithel der kastr. weißen Ratte nach Verabreichung von ACTH vom 7.-11.Tag nach Kastration. Gleichzeitig ist der Kurvenverlauf eingetragen, wie er nach Kastration vorliegt. K=Kontrollwert

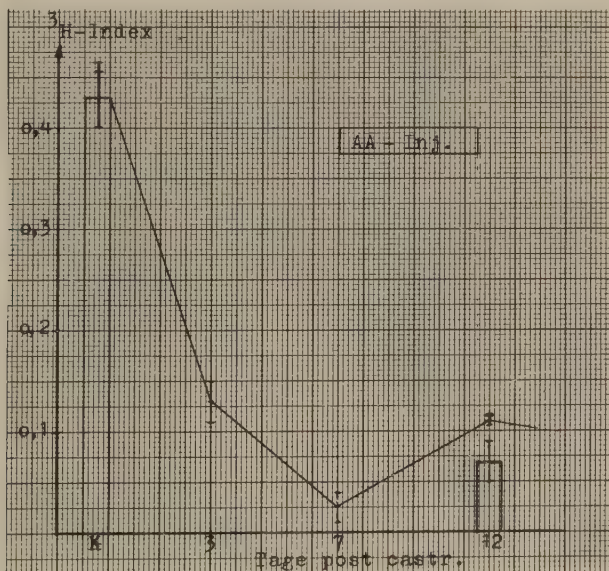


Abb. 4 Darstellung des $^3\text{H-Index}$ der Samenblase kastrierter weißer Ratten nach Verabreichung von Antiandrogen vom 7.-11.Tag post castr. zusammen mit dem Kurvenverlauf nach Kastration. K=Kontrollwert

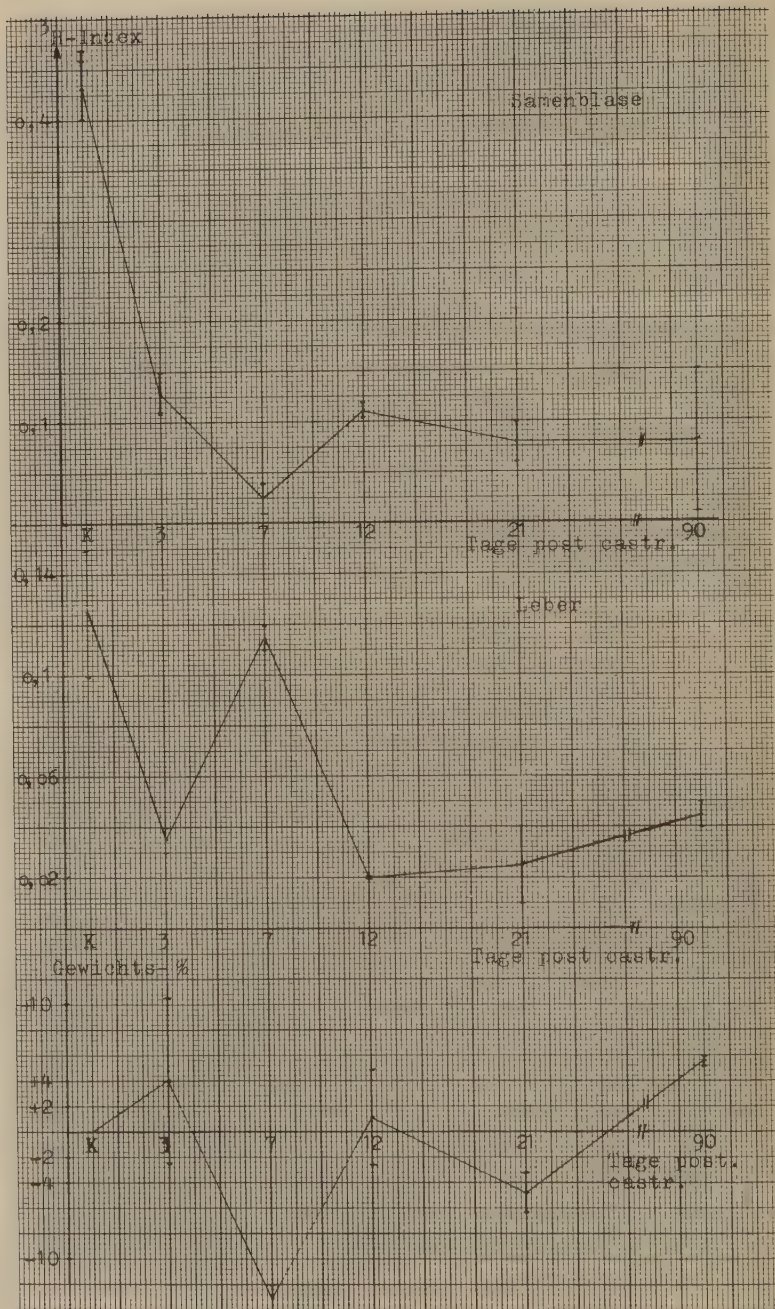


Abb. 5 Vergleichende Darstellung des ^3H -Index von Samenblase und Leber sowie der Gewichtskurve kastrierter weißer Ratten.

VIII. D i s k u s s i o n

In ihrer Arbeit über das Wachstumsverhalten des Samenblasenepithels der erwachsenen weißen Ratte nach Kastration zeigten SCHMID, ARNOLD und HORNSTEIN (1971), daß der ^3H -Index des Samenblasenepithels in den ersten sieben Tagen nach Kastration stark abfällt.

Bedenkt man die Wirkung der Androgene - speziell des Testosteron - so wird es einleuchten, daß ein Abfall des Proliferationsindex nach der Kastration eintritt und daß dies ganz speziell am Samenblasenepithel ausgeprägt ist. Die Ursache hierfür liegt im Ausfall der wichtigsten Androgenbildner, der Leydigzellen. Wie von MANN (1964), SHEPPARD et al. (1965) sowie von SCHMID, ARNOLD und HORNSTEIN (1971) gezeigt wurde, ist die DNS-Synthese der Samenblasen-Epithelzellen testosteronabhängig.

SCHMID, ARNOLD und HORNSTEIN (1971) stellten fest, daß im Samenblasenepithel kastrierter Ratten zwischen dem 7. und 12. Tag ein Wiederanstieg der Proliferation eintritt und daß dann ein gleichmäßiges Plateau erreicht wird. Diesen Wiederanstieg der Proliferation erklärten sie mit der Funktionsaufnahme extragonadaler Testosteronbildner, die sie in der Nebennierenrinde vermuteten. Es ist bekannt, daß innerhalb von zwei Wochen nach Kastration der ^3H -Index des Hypophysenvorderlappens signifikant anstieg (TIETZE et al. 1968). Ebenso wurde

von STÖCKER et al. (1966) festgestellt, daß die Proliferationsrate der NNR kastrierter Ratten zwischen dem 8. und 14. Tag nach Kastration deutlich anwuchs. Zusätzlich waren Befunde bekannt, daß bei intakten männlichen Versuchstieren 95% des Testosterons aus den Testes stammen, daß aber andererseits bei kastrierten Männern die Höhe des Testosteronspiegels im Blut noch 31% (SCHMIDT et al. 1968) bzw. 14% (COPPAGE et al. 1965) des altersentsprechenden Mittelwertes beträgt.

Wie vielfach beschrieben, nimmt das Gewicht vieler Organe nach Kastration ab. Besonders aber ist eine Gewichtsabnahme an den geschlechtsspezifischen Organen festzustellen. Injiziert man andererseits kastrierten Ratten unterschiedliche Mengen Testosteron, so beobachtet man in Abhängigkeit von der injizierten Menge eine direkte Antwort der Samenblase und auch der Koagulationsdrüse darin, daß die Fruktose- und Citronensäurebildung wieder aufgenommen wird (MANN 1964).

Unsere Untersuchungen dienten der Überprüfung der Gedankengänge von SCHMID, ARNOLD und HORNSTEIN (1971). Wir untersuchten dazu die Proliferation des Leberparenchyms und des Samenblasenepithels bei erwachsenen männlichen Ratten zunächst als Kontrolltiere, dann bei erwachsenen männlichen Ratten zu verschiedenen Zeiten nach Kastration (am 3., 7., 12., 21. und 90. Tag) und bei erwachsenen männlichen Ratten am 3., 7. und 12. Tag nach Schein-Operation.

Dabei ergab sich, daß bei scheinoperierten Tieren der ^3H -Index in Leber und Samenblase bis zum 3. Tag abfällt und zwischen dem 3. und 7. Tag wieder ansteigt. Bei kastrierten Tieren fiel die Leberzellproliferation ebenfalls bis zum 3. Tag ab, stieg dann zwischen dem 3. und 7. Tag wieder an, während in der Samenblase die Proliferation bis zum 7. Tag abfiel und dann zwischen dem 7. und 12. Tag wieder anstieg.

Der Abfall der Proliferation der Leberepithelzellen erfolgt bei den kastrierten und bei den scheinoperierten Tieren bis zum 3. Tag, danach kommt es um den 7. postoperativen Tag zu einem Wiederanstieg. Der Proliferationsabfall kann als operationsbedingt angesehen werden, da die Tiere durch die Operation geschädigt sind und postoperativ weniger Nahrung aufnehmen; der Proliferationsanstieg kann entsprechend als Ausdruck der postoperativen Erholungsvorgänge gedeutet werden. Bemerkenswert ist, daß bei kastrierten Tieren die Proliferation der Leberzellen vom 12. bis 90. Tag post operationem deutlich unter unserem Kontrollwert unbehandelter Tiere liegt. Dies könnte die Folge des nach der Kastration stark erniedrigten Testosteronspiegels sein, und damit Ausdruck der Verminderung des anabolen Effektes des Testosterons.

Auffallend ist das Verhalten des Samenblasenepithels. Während bei Schein-Operation der Wiederanstieg des ^3H -Index zwischen dem 3. und 7. Tag liegt, tritt durch die Kastration eine deutliche zeitliche Verschiebung ein.

Hier nämlich findet der Wiederanstieg zwischen dem 7. und 12. Tag statt. Diese Verschiebung des Wiederanstieges müßte in direkter Beziehung zur Kastration stehen und damit zum Hormonausfall.

Dagegen erfolgt der Wiederanstieg der Proliferation der Leberparenchymzellen nach Schein-Operation und nach Kastration gleichzeitig, eine zeitliche Verschiebung wie bei der Samenblase tritt durch die Kastration nicht ein. Daraus schließen wir, daß die Proliferation der Leberzellen weniger hormonabhängig (testosteronabhängig) ist.

Auffallend war weiterhin, daß der Wiederanstieg der Proliferation in der Samenblase scheinoperierter Tiere zur gleichen Zeit erfolgte wie der Wiederanstieg der Proliferation der Leberparenchymzellen scheinoperierter und kastrierter Tiere. Dadurch scheint gezeigt, daß in unserem Versuchsmodell bei scheinoperierten und kastrierten Tieren die durch den Operations-Streß ausgelösten reparativen Vorgänge zwischen dem 3. und 7. Tag ablaufen.

Nach dem 12. Tag post castrationem, also zu einem Zeitpunkt, zu dem die Proliferation in der Samenblase wieder angestiegen war, wird bis zum 90. Tag ein weitgehend gleichmäßiges Plateau des ^3H -Index eingehalten. Dies bedeutet, daß nach dem 12. postoperativen Tag keine wesentliche Änderung der Gesamtsituation (= Testosteronspiegel) eintritt, da die Wachstumsvorgänge in

der Samenblase von der Höhe des Testosteronspiegels abhängen.

Zur gleichen Zeit, in der der Wiederanstieg der Proliferation der Samenblase kastrierter Ratten erfolgt, laufen verstärkte proliferative Vorgänge in der NNR und der Adenohypophyse ab. Wir nehmen daher an, daß dieser Wiederanstieg der Proliferation der Samenblase NNR-abhängig ist.

Die Samenblasen-Regeneration kann erst dann einsetzen, wenn eine hormonelle Umstellung erfolgt ist, wenn also durch die NNR vermehrt Testosteron gebildet wird. In unseren Versuchen verzichteten wir bewußt bei den Schein-Operationen auf eine Einleitung der Narkose mit Äther, da bekannt ist, daß nach Äthernarkose der Testosterongehalt in den Testes und der vena spermatica zeitweise absinkt (FARISS et al. 1969). Die NNR ihrerseits wird durch die Adenohypophyse stimuliert. Zur Überprüfung dieses Modells führten wir weitere Versuche durch:

Wir verabreichten kastrierten Tieren vom 7. bis 11. Tag post castrationem - also während der Zeit, in der der Wiederanstieg der Samenblasen-Proliferation einsetzt - täglich 1 IE Synacten^R i.m.. Dadurch stieg der Proliferationsindex der Samenblase deutlich über den Wert an, der bei unbehandelten Tieren am 12. Tag erreicht wurde. (Die Tötung erfolgte jeweils am 12. postoperativen Tag. Damit zeigten wir, daß eine Beeinflussung des Anstiegs

des ^3H -Index in der Samenblase kastrierter Tiere zwischen dem 7. und 12. Tag durch Stimulierung der NNR möglich ist, daß dadurch die Proliferation gesteigert werden kann.

Zur Prüfung der Frage, ob die Beeinflussung des Wiederanstiegs der Samenblasenproliferation nach Kastration durch die NNR über eine erhöhte Testosteronsekretion erfolgt, verabreichten wir in einem weiteren Versuch zwischen dem 7. und 11. Tag nach Kastration täglich je 10 mg Gestagen-Antiandroge (SH 80714) subcutan. Wir blockierten also mit unserem Antiandroge die Testosteron-Rezeptoren am Erfolgsorgan. Der in diesem Versuch gefundene ^3H -Index lag deutlich niedriger als der nur kastrierter Tiere am 12. Tag. Wir erreichten also eine deutliche Depression des ^3H -Index - verglichen mit dem Wert der kastrierten unbehandelten Tiere. Die Annahme scheint daher berechtigt, daß der Wiederanstieg der Proliferation nach Kastration testosteronabhängig ist, und daß dieses Testosteron (bzw. sein Vorläufer) der NNR entstammt.

Daß es zu einem leichten Anstieg des ^3H -Index kastrierter antiandrogebehandelter Tiere kommt - verglichen mit dem 7. postoperativen Tag - erklären wir damit, daß nach der Blockierung des endogenen Testosterons durch das Antiandroge hormonunabhängige Reparationsvorgänge in der Samenblase ablaufen.

Bemerkenswert erscheint weiterhin das Verhalten des Körpergewichtes nach Kastration. Das Gewicht sinkt bei kastrierten Tieren bis zum 7. Tag auf den niedrigsten Wert ab und steigt danach wieder an. Dieser Wiederanstieg könnte mit den testosteronbedingten anabolen Vorgängen zusammenhängen, mit dem Testosteron, das die NNR nach Kastration vermehrt bildet.

IX. Z u s a m m e n f a s s u n g

Unsere autoradiographischen Untersuchungen dienten der Klärung der Frage nach Funktionsaufnahme extragonadaler Testosteronbildner nach Kastration. Hierzu wurde die Proliferationskinetik am Samenblasenepithel und an den Leberparenchymzellen von 24 erwachsenen männlichen Wistarratten unter verschiedenen Bedingungen bestimmt. Vier Tiere dienten als Kontrolltiere; an zehn Tieren wurde eine Vollkastration vorgenommen (die Tötung von je zwei erfolgte am 3., 7., 12., 21. und 90. Tag nach Kastration); sechs Tiere wurden scheinoperiert und je zwei am 3., 7. und 12. Tag nach Operation getötet. Weitere zwei Tiere, die vollkastriert waren, wurde vom 7. bis 11. Tag post castr. täglich 1 IE ACTH (Synacten^R) appliziert; zwei ebenfalls vollkastrierten Tieren wurde im selben Zeitraum täglich 10 mg Gestagen-Antiandroge (SH 80714) subcutan injiziert. Zur Markierung der in Teilung befindlichen Zellkerne erhielten alle Tiere eine Stunde vor Tötung eine ³H-Thymidin-Injektion (500 µ Ci / 0,5 ml) intraperitoneal. Nach Tötung erfolgte die Anfertigung von Autoradiogrammen indem 3 µ - Schnitte von Leber und Samenblase mit Stripping-Film überzogen wurden. Der ³H-Index wurde durch Auszählung von 10 000 Zellen pro Versuchstier und Organ bestimmt.

Während die Samenblasenproliferation bei kastrierten Tieren bis zum 7. Tag abfiel, fiel die Leberzellenproliferation nur bis zum 3. Tag ab und stieg zwischen dem 3. und 7. Tag wieder an. Bei Schein-Operationen fiel der ^3H -Index von Leber und Samenblase ebenfalls nur bis zum 3. Tag ab. Es tritt also bei kastrierten Tieren die Proliferation in der Samenblase deutlich verzögert auf. Es läßt dies den Schluß zu, daß die Samenblasen-Regeneration erst dann einsetzt, wenn eine hormonale Umstellung erfolgt ist, wenn also durch die NNR vermehrt Testosteron gebildet wird. Dies ließ sich durch Stimulierung der NNR mit ACTH tatsächlich nachweisen, denn der ^3H -Index des Samenblasenepithels stieg deutlich an. Andererseits war es möglich mit Antiandrogen eine Depression der Samenblasenproliferation an kastrierten Tieren zu erzielen, was bedeutet, daß ein testosteronabhängiger Wiederanstieg der Proliferation im Samenblasenepithel kastrierter Ratten zwischen dem 7. und 12. Tag vorliegt. Dieses Testosteron stammt von der NNR, die nach Kastration als extragonadaler Testosteronbildner auftritt, stimuliert durch die Adenohypophyse.

X. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1. Bruchovsky, N. and J.D.Wilson The conversion of testosterone to 5 α -androstan-17 β -ol-3 one by rat prostate in vivo and in vitro. J.biol.chem. 243, 2012, (1968)
2. Bullough, W.S. A study of its relation to the oestrus cycle in normal and abnormal conditions. Phil.Trans B. 231, 453-516, (1946)
3. Bullough, W.S. Epidermal thickness following oestrogene injections in the mouse. Nature(London) 159, 101-102, (1947)
4. Bullough, W.S. and E.B.Laurence Tissue homeostasis in adult mammals. In: Advances in biology of skin. Pergamon Press, Vol.7, 1-36, 55-71, (1967)
5. Chang, L.O. and W.B.Looney A biological and autoradiographic study of the in vivo utilization of tritiated thymidine in regenerating rat liver. Cancer Res. 25, 1817-1822, (1965)
6. Coppage, W.S. and A.E.Cooner Testosterone in humane plasma. New Engl.J.Med. 273, 902, (1965)
7. Dawson, K.B., E.O.Field and G.W.Stevens Differential autoradiography of tritium and another β -emitter by a double stripping-film technique. Nature (London) 195, 510-511, (1963)
8. Dorfman, R.J. Antiandrogens. In: Testosterone, Thieme (Stuttgart) (1968) (zitiert nach Winkler)

9. Engle, E.T. A morphological and experimental study of the proximal lobe of the prostate of the guinea pig, *cavia cobaya*. Anat.Rec. 34, 75-90, (1926)
10. Evensen, A. The effect of adrenaline on the mitotic rate in the epidermis of hairless mice. Acta path.microbiol.scand. 61, 55-59, (1964)
11. Fang, S., K.M. Anderson and S. Liao Receptor proteins for androgens. On the role of specific proteins in selective retention of 17 β -hydroxy-5 α -androstane-3 one by rat ventral prostate in vivo and vitro. J.biol.chem. 244, 6584, (1969)
12. Fariss, B.L., T.J. Hurley, S. Hane and P.H. Forsham Reduction of testicular testosterone in rats by ether anesthesia. Endocrinol. 84, 940-942, (1969)
13. Fitzgerald, P.J., M.L. Eidinoff, J.E. Knoll and E.B. Simmel Tritium in autoradiography. Science 114, 494-498. (1951)
14. Flickinger, G.L. Effect of prolonged ACTH administration on the gonads of sexually mature chickens. Poultry Sci. 45, 753, (1966)
15. Franken, F.H. und W. Hagelskamp Barbiturate und Leber. Med.Wochenschr. 31, 1613-1616, (1970)
16. Friedkin, M., D. Tilson and D. Roberts Studies of deoxyribonucleic acid biosynthesis in embryonic tissues with thymidine-C-14. J.biol.chem. 220, 627-637, (1956)

17. Grundmann, E. und H.J.Seidel Die reparative Parenchymregeneration am Beispiel der Leber nach Teilhepatektomie.
In: Handb.d.allg.Path.VI/2, Springer (Berlin-Heidelberg-New York) (1969)
18. Guzek, J.W. Effect of Adrenocorticotrophic Hormone and Cortisone on the Uptake of tritiated Thymidine by Regenerating Liver Tissue in the White Rat.
Nature 29, 930-931, (1964)
19. Gylling, P. Zur Histophysiologie der Glandula seminalis und der Glandula vesicularis des Kaninchens.
Acta Soc.Sci.Fennicae N5, B2, 1-100, (1938)
20. Henningsen, B. Über die Entwicklung und Chemo-differenzierung der Glandula vesiculosa und der Koagulationsdrüse der Ratte unter normalen und experimentellen Bedingungen.
Zeitschr.f.Zellf.59, 405-442, (1963)
21. Howard, A. and S.R.Pelc Synthesis of deoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage.
Heredity 6, Suppl. 261-273, (1953)
22. Johnson A.D., W.R. Gomes and N.L.Vandermark The Testis. - Volume III
Academic Press (New York - London) (1970)
23. Kalkoff, K.W. und W.Born Zur DNS-Synthese in der psoriatischen Epidermis unter Fluo-cinolonacetamid. (Sonderdruck)
Hautarzt 12, 534-539, 1965 a)

24. Kalkoff, K.W. und W.Born Zur Wirkung von Fluocinolonacet-
tonid auf die DNS-Synthese in der
Epidermis. (Sonderdruck)
Klin.Wschr. 24, 1335-1337, (1965b)
25. Kara, J. and R. Weil Spezific activation of the DNA-
synthesizing aparatus in contact-
inhibited mouse kidney cells by
polyma virus.
Proc.nat.Acad.Sci.57, 63-70, (1967)
26. Karaboyas, G.C. and S.B.Koritz Identity of the site of action
of 3'-5'-adenosine monophosphate and
adrenocorticotropic hormone in
corticoidogenesis in rat adrenal
and beef adrenal cortex sclices.
Biochemistry 4, 462, (1965)
27. Kindler, H. Die Hemmung der kollagenen Faser-
bildung durch Kortison.
Langenbecks Arch.klin.Chirurg.
319, 162, (1967)
28. Koburg, E. und B.Schultze Autoradiographische Untersuchungen
mit ³H-Thymidin über die Dauer der
DNS-Synthese, der Ruhephase und
der Mitose bei proliferierenden
Systemen wie den Epithelien des
Darmes, des Oesophagus und der
Cornea der Maus.
Verh.dtsch.Ges.Path.45, 103-107,
(1961)
29. Korting, G.W. Therapie der Hautkrankheiten.
F.K.Schattauer-Verlag (1967)
30. Labhardt, A. Klinik der inneren Sekretion.
Springer (Berlin-Heidelberg-
New York) 2.Aufl.(1971)

31. Ladinsky, J.L. and B.M. Peckham The kinetics of the generative compartment of the oestrogene dependent vaginal epithelium. *Exp. Cell Res.* 40, 447-455, (1965)
32. Leblond, C.P. and L.F. Bélanger Detection of radioactive phosphorus by the autoradiographic method in the new born mouse. *Anat. Rec.* 94, 542, (1946)
33. Lettré, H. Mitosegifte und ihre Beziehung zu Naturstoffen. *Naturwiss.* 30, 34-40, (1942)
34. Ludwig, E. Der heutige Stand unseres Wissens über die Glatze. *Hautarzt* 13, 337, (1962)
35. Mann, T.A. The biochemistry of semen and of the male reproductive tract. London: Methuen and Co. Ltd. 1964
New York: John Wiley and sons Inc.
36. McQuade, H.A., M. Friedkin and A.A. Atchison Radiation effects of thymidine-2-C-14. *Exp. Cell. Res.* 11, 249-264, (1956)
37. Montagna, W. The structure and function of skin. Academic Press (New York-London) (1962)
38. Moore, C.R., W. Hughs and T.F. Gallagher Rat seminal vesicle cytologie as a testis hormone indicator and the prevention of castration changes testis-extract injection. *Amer. J. Anat.* 45, 109-136, (1930)
39. Mundinger, F. und T. Riechert Hypophysentumoren - Hypophysektomie. Thieme (Stuttgart) 1967

40. Nagata, J., K.Sutou, Y. Misonou and Y.Miura Effect of oestrogene on the uterine cancer induced by 20-methylcholanthrene (from the autoradiographic observation).
Gann 57, 403-412, (1966)
41. Neher, R. Biosynthese des Testosterons.
In: Testosteron - Struma, 13. Symp. d.Dtsch.Ges.f.Endokr., Springer (Berlin-Heidelberg-New York), (1968)
42. Neumann, F., W.Elger, H.Steinbeck und R.von Berswordt-Wallrabe Antiandrogene.
In: Testosteron - Struma, 13. Symp. d.Dtsch.Ges.f.Endokr., Springer (Berlin-Heidelberg-New York), (1968)
43. Oehlert, W. Die Steuerung der Regeneration im mehrschichtigen Plattenepithel.
Verh.Dtsch.Ges.f.Path., Bd. 51, (1966)
44. Oehlert, W. Regeneration, Hyperplasie und Cancerisierung am Beispiel der epithelialen Wechselgewebe.
In: Handb.d.allgem.Path. VI/2 Springer (Berlin-Heidelberg-New York) (1969)
45. Oehlert, W., N. Seemayer und P. Lauf Autoradiographische Untersuchungen über den Generationszyklus der Zellen des Ehrlich-Ascites Carcinoms der weißen Maus.
Beitr.path.Anat. 127, 63-78, (1962)
46. Pelc, S.R. Autoradiographic technique.
Nature (London) 160, 749-750, (1947)
47. Pfeiffer, E.F. und F.Melani Menschliches Wachstumshormon.
Dtsch.med.Wschr. 93, 846, (1968)

48. Pilgrim, Ch.,
K.J.Lennartz,
K.Wegener,
S.Hollweg und
W.Maurer
Autoradiographische Untersuchungen
über tageszeitliche Schwankungen
des ^3H -Index und des Mitoseindex
bei Zellarten der ausgewachsenen
Maus, des Ratten-Fetus sowie bei
Aszites-Tumorzellen.
Z.Zellf. 68, 138-154, (1965)
49. Price, D.
Normal development of the prostate
and seminal vesicle of the rat
with a study of experimental
postnatal modifications.
Amer.J.Anat. 60, 79-127, (1936)
50. Prop, F.J.A. und
S.E.M.Hendrix
Effect of insulin on mitotic rate
in organ cultures of total manuary
glands of the mouse.
Exp.Cell Res. 40, 277-281, (1965)
51. Reichard, P. and
B.Estborn
Utilization of deoxyribosides in
the synthesis of polynucleosides.
J.biol.chem. 188, 839-846, (1951)
52. Rosa, L.
Der Einfluß der Corticoide auf
die Hauttestung.
Vortrag auf der Berliner Tagung
Europ.Akad.f.Allerg. (1961)
(zitiert nach Winkler)
53. Rubini, J.R., E.P.
Cronkite, V.P.Bond
and T.H.Fliedner
The metabolism and fate of triti-
ated thymidine in man.
J.clin.Invest. 39, 909-918, (1960)
54. Rubini, J.R.,
E.Wescott and
S.Keller
In vitro DNA labeling of bone
marrow and leucemic blood leuco-
cytes with tritiated thymidine.
J.Lab.cli.med. 68, 566-576, (1966)
55. Ruhrmann, H.
Der Einfluß parenteral zugeführ-
ter Sexualhormone auf die
Hautoberflächenlipide.
Aesthet.Med. 10, 117, (1961)

56. Sheppard, H.,
W.H.Tsien,
P.Mayer and
N.Howie
Metabolism of the accessory sex
organs of the immature male rat:
Changes in nucleic acid composi-
tion and uptake of thymidine-³H
inducted by castration and methan-
dostenolone. Biochem.Pharmacol.
14, 41-51, (1965)
57. Smolka, H. und
H.J.Soos
Grundriß und Atlas der gynäkolo-
gischen Zytodiagnostik.
Thieme (Stuttgart) 1965
58. Schmid, G.H. und
V.Arnold
Wachstumsverhältnisse des Samen-
blasenepithels bei der heran-
wachsenden weißen Ratte.
Zeitschr.f.Zellf. 119, 378-383,
(1971)
59. Schmid, G.H., V.
Arnold und
O.P.Hornstein
Das Wachstumsverhalten des Samen-
blasenepithels der erwachsenen
weißen Ratte nach Kastration.
Virchows Arch.Abt.B Zellpath.
8, 361-364, (1971)
60. Schmidt, H. M.
Apostolakis und
K.D.Voigt
Testosteronausscheidung als Para-
meter der inkretorischen Hoden-
funktion.
In: Testosteron - Struma, 13. Symp.
d.Dtsch.Ges.f.Endokr., Springer
(Berlin-Heidelberg-New York)
(1968)
61. Schultze, B.
Die Orthologie und Pathologie
des Nucleinsäure- und Eiweiß-
stoffwechsels der Zelle im Auto-
radiogramm.
In: Handb.d.allgem.Path. V/2,
Springer (Berlin-Heidelberg-
New York) (1968)

62. Steigleder, G.K. und W.Buchwald
Experimentelle Untersuchungen zum Verhalten der verbreiterten Rattenepidermis.
Hautarzt 8, 505, (1957)
63. Stöcker, E.
Der Proliferationsmodus in Niere und Leber.
Verh.dtsch.Ges.Path. 50, 53-74, (1966)
64. Stöcker, E., K.Kabus und G.Dohm
Autoradiographische Untersuchungen über die DNS-Synthese in der Nebenniere kastrierter und thyreoidektomierter Ratten.
Z.Zellforsch. 72, 1-11, (1966)
65. Stöcker, E.
Autoradiographische Untersuchungen zum zellulären Proliferationsstoffwechsel im Parenchym von Leber und Niere der Ratte.
Acta Histochem.Suppl. 8, (1968)
66. Tietze, H.U., E.Stöcker, G.Dohm und F.J.Roth
Autoradiographische Untersuchungen zur DNS-Synthese und zum Proliferationsmodus im Hypophysenvorderrappen kastrierter und thyreoidektomierter Ratten.
Sonderdr. aus 14. Symp.d.Dtsch. Ges.f.Endokr., 315-318, Springer (1968)
67. Tveter, K.J. and A.Attaramandal
Selective uptake of radioactivity in rat ventral prostate following administration of testosterone-1, 2-³H. Methodological considerations. Acta endocr. 59, 218, (1968)
68. Ufer, J.
Hormontherapie in der Frauenheilkunde Walter de Gruyter & Co. Berlin (1966) 3. Auflage

69. Villee, C. and
T.Fujii Effects of Testosterone on RNA
metabolism in prostate and
seminal vesicle.
In: Tamm, Testosterone
Thieme (Stuttgart) 1968
70. Walker, B.E. and
C.P.Lebland Sites of nucleic acid synthesis
in the mouse visualized by
radioautography after admini-
stration of C-14-labeled adenin
and thymidine.
Exp.Cell Res. 14, 510-531, (1958)
71. Westhues, M. und
R.Fritsch Die Narkose der Tiere.
Paul Parey-Verlag (Berlin-Hamburg)
1961
72. Williams-Ashmann, H.G. Incorporations of amino acids
into protein by cell-free extracts
of the prostate gland: effects
of testicular hormones and
polyribonucleotides.
Nat.Cancer Inst.Monogr. 12, 281,
(1963)
73. Wilson, J.D. and
J.D.Walker The conversion of testosterone
to 5α -androstan-17 β -ol-3-one
(dihydrotestosterone) by skin
slices of man.
J.clin.Invest. 48, 371, (1969)
74. Winkler, K. Hormonbehandlung in der Dermato-
logie. 2. Auflage
Walter De Gruyter und Co.(Berlin)
1969
75. Zackheim, H.S. Effect of prolonged administra-
tion of testosterone on the epi-
dermis of female rats.
J.invest.Derm. 50, 401, (1968)

LEBENS LAUF

Am 22. August 1946 wurde ich als Sohn des Amtrats Josef Rathgeber und seiner Ehefrau Agnes, geb. Welte in Schwäb. Gmünd geboren. Im Frühjahr 1953 trat ich in Aalen-Unterrombach in die Volksschule ein und besuchte ab 1956 das Schubart - Gymnasium in Aalen, an dem ich im März 1966 die Reifeprüfung ablegte. Im Sommersemester 1966 begann ich an der Universität Erlangen - Nürnberg mit dem juristischen Studium und wechselte nach dem 2. Semester auf das Studium der Zahnmedizin über. Im Mai 1972 beendete ich das zahnmedizinische Studium an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen - Nürnberg mit der Zahnärztlichen Prüfung.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
